

氏 名	冬 廣 雄 彦
学 位 の 種 類	博士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 5704 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Upregulation of Cancer-associated Myofibroblasts by TGF- β from Scirrhou Gastric Carcinoma Cells (スキルス胃癌細胞が生産するTGF- β が癌間質の筋線維芽細胞の発現を亢進させる)
論文審査委員	主 査 平川 弘聖 教授 副 査 荒川 哲男 教授 副 査 鰐 淵 英機 教授

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】癌微小環境における線維芽細胞は胃癌の増殖や転移に関連していると考えられているが、近年その中でも α -SMA 陽性の筋線維芽細胞の影響が示唆されている。しかし癌微小環境における筋線維芽細胞の発現調節のメカニズムは明らかにされていない。今回我々はそのメカニズムを明らかにするために以下の研究を行った。

【材料】胃癌間質より樹立した 2 種類の線維芽細胞 (CaF-29, CaF-33) および正常胃壁より樹立した線維芽細胞 (NF-29) と 4 種類のヒトスキルス胃癌細胞株 (OCUM-2MD3, OCUM-12) および非ヒトスキルス胃癌細胞株 (MKN-45, MKN-74) を用いた。

【方法】共焦点蛍光顕微鏡を用いて α -SMA, Vimentin, DAPI で 3 重標識し線維芽細胞中の筋線維芽細胞の発現割合を継代別に調べた。ウェスタンブロット法にても同様に筋線維芽細胞の発現を調べた。また Real-time RT-PCR 法にて胃癌細胞上清、TGF- β を添加し α -SMA mRNA の発現の変化を調べた。

【結果】共焦点蛍光顕微鏡、ウェスタンブロット法にて筋線維芽細胞の発現率は NF-29 より CaF-29 で有意に多く、継代ごとにその発現率は有意に低下した。TGF- β を添加することによって CaF の α -SMA の発現は有意に増加した。スキルス胃癌細胞より抽出した培養上清を添加することにより CaF の α -SMA の発現は有意に増加したが非スキルス胃癌からの培養上清では増加しなかった。またスキルス胃癌細胞の培養上清による CaF の α -SMA の発現の増加は TGF- β の中和抗体および Smad2 SiRNA にて有意に抑制された。

【結論】癌間質中には筋線維芽細胞の発現が多く、それにはスキルス胃癌細胞から産生される TGF- β が深く関与することが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

線維芽細胞は胃癌の増殖・進展に関与していると考えられ、なかでも α -SMA 陽性の筋線維芽細胞の関与が示唆されている。しかしながら、癌微小環境における筋線維芽細胞の発現調節のメカニズムは明らかにされていない。本研究は、そのメカニズムを明らかにすることを目的として検討が行われた。

方法は、胃癌部より樹立した 2 種類の線維芽細胞 (CaF-29, CaF-33) と正常部より樹立した線維芽細胞 (NF-29)、および 4 種類のスキルス胃癌細胞株 (OCUM-2MD3, OCUM-12) と非スキルス胃癌細胞株 (MKN-45, MKN-74) を用い、共焦点蛍光顕微鏡にて α -SMA, Vimentin, DAPI で 3 重標識し線維芽細胞中の筋線維芽細胞の発現割合を継代別に調べ、ウェスタンブロット法にても同様に筋線維芽細胞の発現を検討している。また real-time RT-PCR 法にて胃癌細胞上清、TGF- β を添加し α -SMA mRNA の発現の変化を検討している。

その結果、共焦点蛍光顕微鏡、ウェスタンブロット法にて筋線維芽細胞の発現率は NF-29 より

CaF-29 で有意に多く、継代ごとにその発現率は有意に低下した。TGF- β を添加することによって CaF の α -SMA の発現は有意に増加した。スキルス胃癌細胞培養上清を添加することにより CaF の α -SMA の発現は有意に増加したが非スキルス胃癌からでは増加しなかった。またスキルス胃癌細胞の培養上清による CaF の α -SMA の発現の増加は TGF- β 中和抗体および Smad2 SiRNA にて有意に抑制された。以上の結果より癌間質中には筋線維芽細胞の発現が多く、それにはスキルス胃癌細胞から産生される TGF- β が深く関与することが示唆された。

本論文はスキルス胃癌と癌間質の相互作用における増殖進展機序の解明に寄与するものと考えられる。よって、本研究は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定された。